

中国赫坎按蚊类群的六种按蚊的杂交 和染色体的观察*

缪建吾 潘家复 蒋文斌

(中国科学院上海昆虫研究所)

摘 要

本文报告了赫坎按蚊类群中的中华按蚊 (ASS)、长浮按蚊 (ACF)、嗜人按蚊 (AAP)、大窄按蚊 (ADZ)、小宽按蚊 (AXK) 以及四川的八代按蚊 (AYS) 与辽宁的AYL品系的杂交和唾腺染色体的观察。结果表明, 中华按蚊和长浮按蚊, 嗜人按蚊和大窄按蚊之间不存在生殖隔离。因此, 长浮按蚊和大窄按蚊可能不是独立的物种; 小宽按蚊和四川的八代按蚊不存在生殖隔离; 小宽按蚊和辽宁的AYL品系以及AYL品系和四川的八代按蚊却存在生殖隔离。因此, AYL品系可能为新种, 而小宽按蚊新种能否成立, 有待进一步研究。

关键词: 赫坎按蚊类群, 杂交, 唾腺染色体

赫坎按蚊类群 (*Anopheles hyrcanus* group) 在我国分布广, 物种数量多, 形态变异复杂, 与疾病关系密切。许锦江和冯兰洲 (1975) 报道该类群在我国有 9 个近缘种。马素芳 (1981) 认为有 16 个种组成, 并发现长浮按蚊 (*An. changfus*)、大窄按蚊 (*An. dazhaius*)、小宽按蚊 (*An. xiaokuanus*) 和黑河按蚊 (*An. heiheensis*) 4 个新种。基层防疫研究部门在实际工作中对某些新种的真实性抱有怀疑, 这不仅影响媒介按蚊研究的深入, 而且对其防治亦将带来不便。应用杂交和细胞遗传学的技术可从中确定类群内近缘种的真实存在, 证实形态分类的正确与否 (Kreutzer 和 Kitzmiller, 1971, 1972; Kanda 等 1981); 发现新种 (Oguma, 1976; Kanda 和 Oguma, 1978); 检出复合体内形态十分相似的姐妹种 (Sibling species) (Davidson 等, 1967; Davidson 和 Hant, 1973)。这对形态分类学中可能存在的某些混淆、疑问的解决提供了又一条途径。

通过对该类群上述内容的研究, 可使按蚊研究向纵深发展, 并对媒介按蚊的防治有理论上和应用上的意义。为此, 本文研究了长浮按蚊、大窄按蚊和小宽按蚊分别与中华按蚊 (*An. sinensis*)、嗜人按蚊 (*An. anthropophagus*) 和八代按蚊 (*An. yai-sushiroensis*) 的杂交及其后代的能育性和唾腺染色体的状况, 以确定它们之间的关系。

* 本研究承四川省寄生虫病研究所陈怀录、谢常、康万民等同志的支持和帮助, 特此致谢。

本文1985年10月8日收到, 同年12月7日修回。

材 料 和 方 法

蚊种和采集地：中华按蚊采自上海郊区；长浮按蚊采自四川省峨眉山之报国寺附近；嗜人按蚊采自浙江吴兴县。上两种均为实验室饲养多年的品系。大窄按蚊和四川的八代按蚊均采自四川省的夹江县；辽宁的AYL品系采自辽宁省的庄河县；小宽按蚊采自北京昌平区。它们均以人工诱导交配法在实验室传代。上述三个新种采自人房或牛房内的吸血雌蚊，经单个饲养产卵，按马素芳(1981)描述的特征逐个检查，符合者留下，并保存少量标本备考。

杂交和染色体制备：按作者以前的报告的方法进行(蒋文斌等, 1981)。观察指标为：一、杂种两性及其回交后子代的能育性；二、杂种的幼虫唾腺染色体联会与否；三、杂种性腺和外生殖器的发育状况；四、抱握器运动频率。

结 果

从中华按蚊和长浮按蚊，嗜人按蚊和大窄按蚊的杂交中可看出几点结果(表1之一和二)。

1. 不同种杂交后的卵之孵化率与亲代自交的卵之孵化率不相上下，大多在70%以上。每只雌蚊平均产卵数都在100颗以上。

2. 杂种 F_1 自交后所产卵的平均数和孵化率和亲代近似。

3. 杂种 F_1 和亲代回交之平均产卵数和孵化率与亲代的相近，表现出正常的生殖力，没有显示异常情况。

4. 雄蚊抱握器运动频率在中华按蚊与长浮按蚊以及嗜人按蚊与大窄按蚊之间亦无显著性差异(表2)。

5. 杂种的能育与否应在唾腺染色体、生殖腺和雄性外生殖器上有所反映。这些在我们已发表的论文中已得到验证(蒋文斌等, 1981; 潘家复等, 1982—83; 缪建吾等, 1982—83)。结果表明 F_1 杂种没有出现唾腺染色体不联会现象。性腺发育正常，无萎缩退化。外生殖器亦正常。(参见图1和2之正常个体状况图)。

从上述结果可得出一个结论即中华按蚊和长浮按蚊以及嗜人按蚊和大窄按蚊在实验室不存在生殖隔离，是完全能育的。

但是，小宽按蚊与四川的八代按蚊及辽宁的AYL品系杂交出现两种迥然不同的情况。当小宽按蚊与四川的八代按蚊杂交时，其杂种 F_1 及自交、回交的能育性均为正常；杂种的唾腺染色体完全联合；性腺和外生殖器发育亦正常；两种雄虫的抱握器运动频率亦无显著性差异($P > 0.05$)。这些说明其后代不出现生殖隔离(表1之三)。在自然界这两个种之间存在基因流动，能连续繁衍后代。而小宽按蚊与辽宁的AYL品系杂交时， F_1 代获得1524条幼虫，卵的孵化率仅16.18%，所得成虫11只，且都是雌性，以致无法进行自交。回交后雌蚊亦未产卵。经解剖其性腺显示出完全萎缩。杂种幼虫的唾腺染色体呈现不联会状态。它们两种雄虫的抱握器运动频率呈极显著性差异($P <$

表1 六种按蚊的杂交结果
Table 1 Results from crosses among six *Anopheles* species

	杂交组合 crosses	产卵数 no. of ovip. mosq.	卵数 no. of eggs	幼虫数 no. of larvae	孵化率% hatching rate
1	ASS × ASS	8	1677	1562	93.14
2	ACF × ACF	9	1240	877	70.73
3	ASS × ACF	10	2639	2198	83.29
4	(ASS × ACF) F ₁ × F ₁ (ASS × ACF)	10	2208	1875	84.92
5	(ASS × ACF) F ₁ × ASS	6	1278	1048	82.00
6	(ACF × ASS) F ₁ × ACF	10	2178	2073	95.18
7	ASS × F ₁ (ASS × ACF)	10	1659	1099	66.24
8	ACF × F ₁ (ACF × ASS)	9	1147	887	77.33
二					
1	AAP × AAP	15	1801	1432	79.50
2	ADZ × ADZ	10	1323	957	72.34
3	AAP × ADZ	20	3112	2385	76.64
4	(AAP × ADZ) F ₁ × F ₁ (AAP × ADZ)	11	1460	1172	80.27
5	(AAP × ADZ) F ₁ × AAP	14	1424	942	66.15
6	(ADZ × AAP) F ₁ × ADZ	18	1993	1317	66.08
7	AAP × F ₁ (AAP × ADZ)	13	1956	1331	67.70
8	ADZ × F ₁ (ADZ × AAP)	11	1140	844	74.04
三					
1	AYS × AYS	18	2060	1518	73.69
2	AXK × AXK	11	1870	1551	82.94
3	AYS × AXK	58	7432	4073	54.80
4	(AYS × AXK) F ₁ × F ₁ (AYS × AXK)	17	2952	2584	87.53
5	(AYS × AXK) F ₁ × AYS	12	1392	1019	73.20
6	(AXK × AYS) F ₁ × AXK	13	2054	1718	83.69
7	AYS × F ₁ (AYS × AXK)	10	1272	1132	88.99
8	AXK × F ₁ (AXK × AYS)	5	883	687	77.80

表1 续
Table 1 Continued

	杂交组合 crosses	产卵蚊数 no. of ovip. mosq.	卵数 no. of eggs	幼虫数 no. of larvae	孵化率% hatching rate
四					
1	AYL × AYL	8	1207	883	73.16
2	AXK × AXK	11	1870	1551	82.94
3	AYL × AXK	57	9339	1524	16.18
4	(AYL × AXK)F ₁ × F ₁ (AYL × AXK)	—	—	—	—
5	(AYL × AXK)F ₁ × AYL	0	—	—	—
6	(AYK × AYL)F ₁ × AXK	0	—	—	—
7	(AXK × F ₁ (AXK × AYL)	—	—	—	—
8	AYL × F ₁ (AYL × AXK)	—	—	—	—
五					
1	AYL × AYL	8	1207	883	73.16
2	AYS × AYS	18	2060	1518	73.69
3	AYL × AYS	26	4705	1625	34.54
4	(AYL × AYS)F ₁ × F ₁ (AYL × AYS)	—	—	—	—
5	(AYL × AYS)F ₁ × AYL	0	—	—	—
6	(AYS × AYL)F ₁ × AYS	0	—	—	—
7	AYL × F ₁ (AYL × AYS)	—	—	—	—
8	AYS × F ₁ (AYS × AYL)	—	—	—	—

* ASS = *Anopheles sinensis* ACF = *An. changfus*
 AAP = *An. anthropophagus* ADZ = *An. dazhaius*
 AYS = *An. yatsushiroensis* AXY = *An. xiaokuanus*

3—8 杂交组合包含正反交的数据

Data of reciprocal crosses are contained in 3—8 groups.

0.01) (表1之四, 表2和图1)。

四川的八代按蚊和辽宁的AYL品系分别与小宽按蚊杂交获得不同的结果, 为究其原因, 我们又将前者 and AYL品系杂交, 获得类似于小宽按蚊和辽宁的AYL品系杂交的结果(表1之五和图2)。

综合上述结果认为, 马素芳(1981)发现的长浮按蚊和大窄按蚊两个新种值得怀

疑, 恐难以成立。至于小宽按蚊与四川的八代按蚊及 AYL 品系杂交获得截然不同结果的原因, 将在讨论中论述。

讨 论

表 2 人工诱导交配时六种按蚊雄虫抱握器运动频率
Table 2 The mean frequency of clasper movement during induced copulation in six species

蚊 类 species	样本数 no. of sampling	抱握器平均运动频率 mean freq. of clasper movement	t	P
中华按蚊 <i>An. sinensis</i>	13	8.3 ± 0.246	0.470	>0.05
长浮按蚊 <i>An. changfus</i>	15	8.5 ± 0.258	$t_{0.05(28)} = 2.056$	
嗜人按蚊 <i>An. anthropophagus</i>	16	6.8 ± 0.187	0.134	>0.05
大拿按蚊 <i>An. dazius</i>	15	6.9 ± 0.746	$t_{0.05(29)} = 2.042$	
四川的八代按蚊 <i>A. yatsushiroensis</i> from Sichuan	30	8.4 ± 0.294	0.00	>0.05
小宽按蚊 <i>An. xiaokuanus</i>	30	8.4 ± 0.237	$t_{0.05(58)} = 2.021 - 2.008$	
辽宁的AYL品系 AYL strain from Liaoning	15	7.5 ± 0.015	6.623	<0.01
小宽按蚊 <i>An. xiaokuanus</i>	30	8.4 ± 0.237	$t_{0.01(43)} = 2.702 - 2.678$	
四川的八代按蚊 <i>An. yatsushiroensis</i> from Sichuan	30	8.4 ± 0.294	5.909	<0.01
辽宁的AYL品系 AYL strain from Liaoning	15	7.5 ± 0.015	$t_{0.01(43)} = 2.704 - 2.678$	

关于小宽按蚊与四川的八代按蚊及 AYL 品系杂交出现的不同结果, 我们不得不对它们的成虫的形态特征作一番查对。按马素芳 (1981) 的描述, 发现四川的八代按蚊和北京的小宽按蚊在形态上比较相似; 而辽宁的 AYL 品系的有些特征与她所描述的八代按蚊相近。但是许锦江和冯兰洲 (1975) 将马氏的小宽甲板型按蚊即小宽按蚊归为八代按蚊。因此, 不同的结论表明, 问题的关键在于对八代按蚊的鉴别。为此我们将上述三地采得的按蚊请上海寄生虫病研究所有关同志再作比较鉴定。他们认为, 北京的小宽按蚊的标本与四川的八代按蚊的标本相似, 属八代按蚊。而辽宁的 AYL 品系可能是新种。根据本文的北京的小宽按蚊和四川的八代按蚊分别与辽宁的 AYL 品系杂交均出现生殖隔离现象, 证明后者可能为一新种。这有待进一步研究。

赫坎按蚊类群(或称中华按蚊种团)在我国分布极广,且成员众多,以多种手段对该类群作深入研究是有着理论上和实际应用上的意义。当前应用杂交、唾腺染色体包括体细胞染色体的带型分析和电泳技术对蚊类作细胞遗传学和分子群体遗传学的分析已取得可喜结果。Kanda等(1981)对赫坎按蚊类群所做的进化遗传学分析的基本手段就是上述的技术,证实他们所研究的该类群的9个种是独立存在的物种,并且发现一个新成员——*engarensis* (Oguma, 1976; Kanda 和 Oguma, 1978)。我们对中华按蚊和雷氏按蚊嗜人亚种的研究证明两者分别是独立的种(蒋文斌等, 1981)。这些结果都表明应用上述手段作为形态分类的补充,以确定类群内成员的组成是有价值的。

分类学的发展表明,过去认为是单一的物种,而实际上是由若干个体形态上相近似或根本无法用形态特征来鉴别,彼此之间存在生殖隔离的近缘种所组成的类群或复合体。这在按蚊中较为常见。最著名的例子是同冈比亚按蚊复合体(*Anopheles gambiae* complex)。它们中的成员由于缺乏形态变异,又因不能交配受精,彼此不能基因流动,致使形态特别相似,简直无法用形态特征来区分它们,故以往该复合体被认为是单一的物种。但分布于不同地区或不同孳生场所的该物种在生态习性和传病作用上却存在很大差异。经用杂交和比较多线染色体的带型的方法确知该复合体至少有6个物种组成(Davidson等, 1967; Davidson 和 White, 1972; Davidson 和 Hunt, 1973)。赫坎按蚊类群亦存在类似情况,一些鉴别特征往往重叠,即使从单一亲本传下的后代的个体中,特征可能亦不一致。因此,新种形态特征的选择就显得十分重要。若将非稳定遗传的性状误作为种的特征,那么可能会将形态略有变异的异地群体误认为新种。现在完全可以借助细胞遗传学或分子群体遗传学的方法补充单纯形态分类的不足。本报告的结果证实了这一点。

参 考 文 献

- 马素芳 1981 我国中华按蚊种团的研究,包括四新种。动物学集刊 1, 59—69. 科学出版社。
- 许锦江 冯兰洲 1975 我国赫坎按蚊类群的研究。昆虫学报 18, 77—98。
- 蒋文斌 潘家复 廖建吾 1981 中华按蚊和雷氏按蚊嗜人亚种的杂交。昆虫学研究集刊 第二集 103—109. 上海科学技术出版社。
- Davidson, G. and Hunt, R. H. 1973 The crossing and chromosome characteristics of a new sixth species in the *Anopheles gambiae* complex. *Parassitologia* 15, 121—128.
- Kanda, T. and Oguma, Y. 1976 Morphological variations of *Anopheles sinensis* Wiedemann, 1828 and *A. lesteri* Baisas and Hu, 1936 and frequency of clasper movements of the males of several *Anopheles* species during induced copulation. *Jap. J. Sanit. Zool.* 27, 325—331.
- Kanda, T. and Oguma, Y. 1978 *Anopheles engarinsis*, a new species related to *sinensis* from Hokkaido Island, Japan. *Mosq. Syst.* 10, 45—52.
- Kanda, T., et al. 1981 Evolutionary genetics of the *Anopheles hyrcanus* group, the *leucosphyrus* group and the *Pyrrhophorus* group in East Asia and the Pacific Area. *Cytogenet. Genet. Vec. Pro. Sym. XV* 1th Intern. Congr. Ent. pp. 31—60.
- Kreutzer, R. D. and Kitzmiller, J. B. 1971 Hybridization between two species of mosquitoes *Anopheles punctipennis* Say and *Anopheles perplexens* Ludlow. *J. Hered.* 63, 191—196.
- Oguma, Y. 1976 Chromosomal polymorphism and salivary gland chromosomes of hybrids between strains of *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae). *Jap. J. Genet.* 51, 229—236.

HYBRIDIZATION AND CHROMOSOME OBSERVATIONS ON SIX SPECIES OF THE *ANOPHELES HYRCANUS* GROUP IN CHINA (DIPTERA, CULICIDAE)

Miao Jianwu Pan Jiafu Jiang Wenbin

(Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica)

Crossing experiments among 6 species and one strain dividing 5 crossing groups of *Anopheles hyrcanus* group were carried out by induced copulation. The 6 species and one strain are *Anopheles sinensis* (ASS), *An. chanfus* (ACF), *An. anthropophagus* (AAP), *An. dazhais* (ADZ), *An. yatsushiroensis* (AYS) from Sichuan province, *An. xiaokuanus* (AXK) and AYL strain from Liaoning province, and 5 crossing groups are ASS×ACF, AAP×ADZ, AXK×AYS, AXK×AYL, AYS×AYL, respectively. The contents of the observation were: 1. The fertility of both sexes of F₁ hybrid; 2. The synapsis of the salivary gland chromosomes of F₁ hybrid or not; 3. The developmental state of the reproductive systems of both sexes; 4. The mean frequency of the clasper movement of the males under inducing copulation.

The fertility test indicated that both sexes of the hybrids from ASS×ACF, AAP×ADZ and F₁ hybrids backcrossed with parents were fully fertile. The chromosomes of F₁ hybrids showed complete synapsis. The developmental state of the reproductive systems were normal. The frequencies of clasper movements of ASS and ACF, AAP and ADZ were not significant ($P>0.05$). So there did not exist the reproductive isolation between *sinensis* and *changfus*, *anthropophagus* and *dazhais*. Thus, *An. changfus* and *An. dazhais* may not be the independent species.

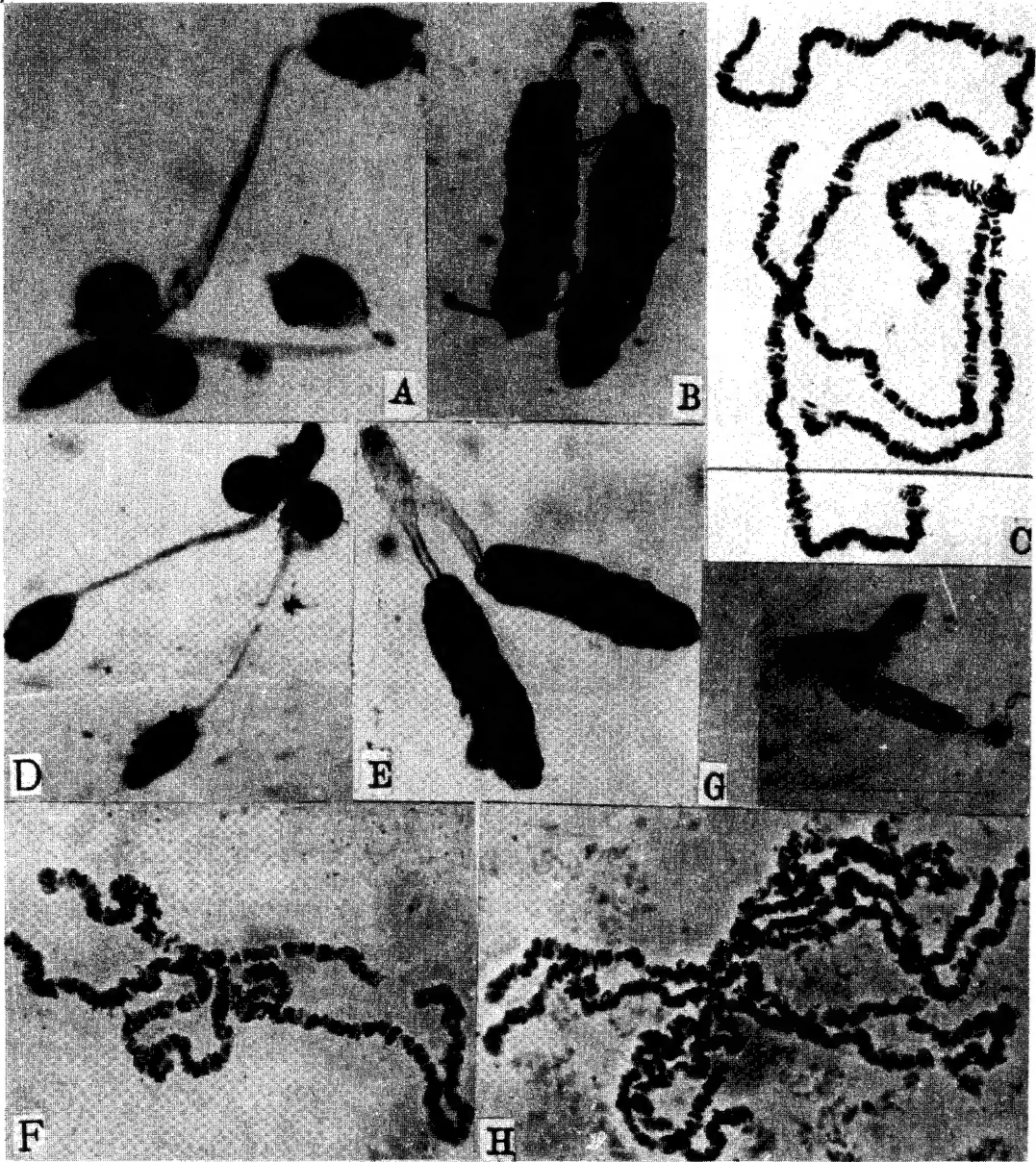
Results from crossing between AXK×AYS, AXK×AYL and AYL×AYS showed that the first group was not reproductive isolated, while the latter two were reproductive isolated. According to the morphological characters, *Anopheles xiaokuanus* (AXK) is similar to *An. yatsushiroensis* from Sichuan province (AYS). AYL strain from Liaoning province, however, is different from above two species in characters. It is, therefore, open to question whether *An. xiaokuanus* can be established as new species.

Key words: *Anopheles hyrcanus* group Hybridization Salivary gland chromosomes

图版 I

缪建吾等: 中国赫坎按蚊类群的 6 种按蚊的杂交和染色体的观察

Miao Jianwu, *et al.*; Hybridization and Chromosome Observations on six Species of the *Anopheles hyrcanus* Group in China (Diptera: Culicidae)



亲代的精巢、卵巢和唾液腺染色体; F₁杂种的卵巢和唾液腺染色体

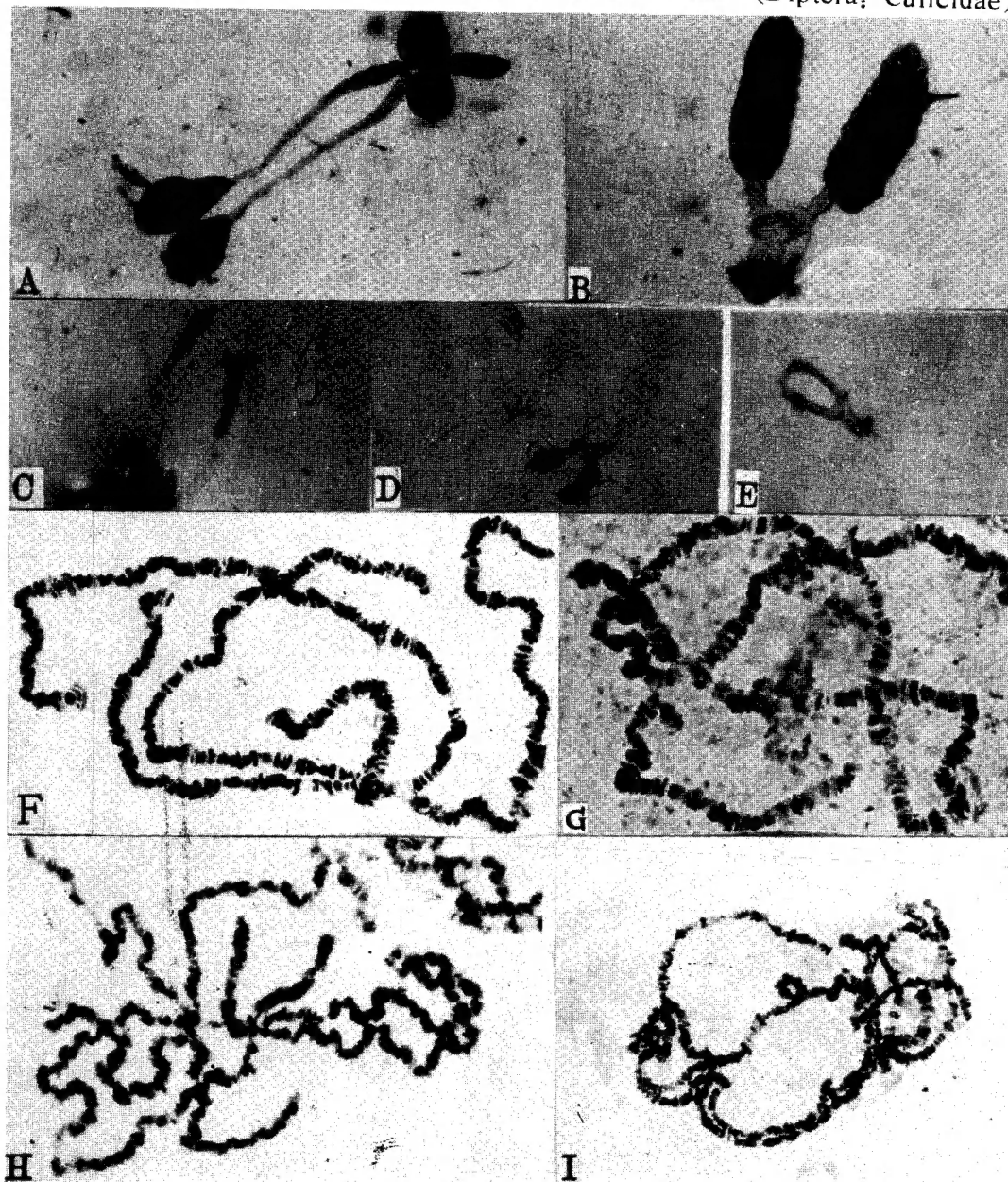
A, B, C: AYL 品系

D, E, F: 小宽按蚊 (AXK)

G: F₁杂种 (AYL ♀ x AXK ♂) 的萎缩卵巢。

H: F₁杂种 (AYL ♀ x AXK ♂) 的不联会的唾液腺染色体。

Miao Jianwu, *et al.*: Hybridization and Chromosome Observations on Six Species of the *Anopheles hyrcanus* Group in China (Diptera, Culicidae)



亲代和 F_1 杂种的精巢、卵巢

A, B: 四川的八代按蚊 (AYS) 的精巢和卵巢。C, D: F_1 杂种 (AYS♀ x AYL♂) 的萎缩精巢和卵巢。

E: F_1 杂种 (AYL♀ x AYS♂) 的萎缩卵巢。F, G: AYL 品系和 AYS 的唾腺染色体。

H, I: F_1 杂种 (AYL♀ x AYS♂) 和 F_1 杂种 (AYS♀ x AYL♂) 的不联会染色体。